

EP 37319

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

003215157

WPI Acc No: 1981-75714D/198141

Related WPI Acc No: 1980-36799C; 1981-29440D; 1982-97811E; 1985-305015

**Muco-polysaccharide antithrombotics - with more specific activity than
heparin to factor Xa; prepd. by controlled depolymerisation of heparin**

Patent Assignee: DROPIC SOC CIV (LCHO); CHOAY SA (LCHO); LORMEAU J
(LORM-I)

Inventor: CHOAY J; LORMEAU J; PETITOU M; LORMEAU J C

Number of Countries: 021 Number of Patents: 017

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
WO 8102737	A	19811001				198141 B
EP 37319	A	19811007	EP 81400449	A	19810320	198142
FR 2478646	A	19810925				198144
JP 57500335	W	19820225				198214
DK 8105113	A	19820413				198218
CS 8102064	A	19820625				198238
DD 157561	A	19821117				198312
HU 28471	T	19831228				198406
IL 62424	A	19841231				198509
CA 1207759	A	19860715				198633
EP 37319	B	19870408				198714
DE 3176086	G	19870514				198720
US 4686288	A	19870811	US 84681017	A	19841213	198734
JP 90031081	B	19900711	JP 81500903	A	19810320	199031
SU 1658820	A	19910623	SU 3360355	A	19811120	199214
EP 37319	B2	19950628	EP 81400449	A	19810320	199530
DK 172877	B	19990906	WO 81FR41	A	19810320	199943
			DK 815113	A	19811118	

Priority Applications (No Type Date): FR 806282 A 19800320; FR 7831357 A
19781106; US 84681017 A 19841213

Cited Patents: Jnl.Ref; EP 14184; FR 2440376; US 3766167

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

WO 8102737 A F 29

Designated States (National): AU DK JP SU US

EP 37319 A F

Designated States (Regional): AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

EP 37319 B F

Designated States (Regional): AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

SU 1658820 A 3

EP 37319 B2 F 18 C08B-037/10

Designated States (Regional): AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

DK 172877 B C08B-037/10 Previous Publ. patent DK 8105113

Abstract (Basic): WO 8102737 A

Mucopolysaccharide (MPS) compsns., which are soluble in 55-61 deg.
GL, pref. 58 deg. GL, aq. alcohol (water-ethanol), which tend towards
insolubility in aq. ethanol having higher concentrations of ethanol and

BEST AVAILABLE COPY

which are insoluble in pure alcohol, have Yin-Nessler (YW) and USP concns. respectively in a ratio of at least 2, pref. at least 3 and esp. 6-10, with a YW activity above 200 iu/mg, pref. above 250 iu/mg, comprise for the most part compounds of mol.wt. 2000-8000 daltons, which correspond to structures having 8-40 saccharidic groups and which contain MPS chains having terminal groups having a 2,5-anhydro-D-manno-based structure, in which the prim. alcohol function in position 6 is opt substd. by a SO₃- group.

Used as antithrombotics, which have more selective activity than heparin with respect to X-factor activity, or Xa factor, of blood and which show strong antithrombotic activity without causing haemorrhage risk. The compsn. may be administered orally, rectally, parenterally or by aerosol. Activity tests are described.

Title Terms: MUCO; POLYSACCHARIDE; ANTITHROMBOTIC; MORE; SPECIFIC; ACTIVE; HEPARIN; FACTOR; PREPARATION; CONTROL; DEPOLYMERISE; HEPARIN

Index Terms/Additional Words: SODIUM; NITRITE; NITROUS; ACID; HYDROCHLORIC
Derwent Class: B04

International Patent Class (Main): C08B-037/10

International Patent Class (Additional): A61K-031/72; A61K-031/725;

C07H-001/00; C08K-031/72

File Segment: CPI

12

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

21 Numéro de dépôt: 81400449.5

51 Int. Cl.³: C 08 B 37/10
A 61 K 31/725

22 Date de dépôt: 20.03.81

30 Priorité: 20.03.80 FR 8006282

43 Date de publication de la demande:
07.10.81 Bulletin 81/40

84 Etats contractants désignés:
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

71 Demandeur: CHOAY S.A.
48, Avenue Théophile-Gautier
F-75782 Paris Cédex 16(FR)

72 Inventeur: Lormeau, Jean-Claude
5, rue Alain
F-76150 Maromme(FR)

72 Inventeur: Petitou, Maurice
27, rue du Javelor
F-75013 Paris(FR)

72 Inventeur: Choay, Jean
130, Faubourg Saint-Honoré
F-75008 Paris(FR)

74 Mandataire: Peaucelle, Chantal et al,
Cabinet Plasseraud 84, rue d'Amsterdam
F-75009 Paris(FR)

54 Mucopolysaccharides possédant des propriétés biologiques, leur préparation et leur application en tant que médicaments.

57 L'invention vise des mucopolysaccharides biologiquement actifs plus spécifiques que l'héparine, notamment, vis-à-vis du facteur Xa du sang. Ces mucopolysaccharides peuvent être obtenus par dépolymérisation partielle, dans des conditions ménagées d'héparine par action d'un agent chimique tel que l'acide nitreux.

Les conditions mises en oeuvre permettent d'obtenir des mucopolysaccharides possédant un titre USP plus faible que celui de l'héparine de départ et un titre Yin-Wessler au moins égal à celui de cette héparine. Ces produits sont utilisables, notamment en tant que médicaments antithrombotiques.

EP 0 037 319 A1

"Mucopolysaccharides possédant des propriétés biologiques, leur préparation et leur application en tant que médicaments"

5 L'invention est relative à des compositions mucopolysaccharidiques possédant des propriétés biologiques leur permettant notamment de contrôler de manière hautement spécifique certaines étapes de la coagulation sanguine. Elle concerne également leur préparation et leur application en tant que principe actif de médicament.

10 L'invention concerne plus particulièrement des compositions de mucopolysaccharides (produits désignés ci-après par l'abréviation MPS) possédant une activité plus sélective que l'héparine, à savoir, vis-à-vis du facteur X activé, ou facteur Xa, du sang, et par là une activité antithrombotique puissante sans entraîner de risques hémorragiques pour le patient.

15 La recherche de voies d'accès à des produits du type évoqué ci-dessus, de mise en oeuvre aisée et à rendement élevé, a amené les inventeurs à étudier plus spécialement la dépolymérisation de l'héparine par voie chimique.

20 On notera que le terme héparine est utilisé dans la description et les revendications dans son sens le plus large, pour désigner indifféremment une préparation d'héparine commerciale de qualité pharmaceutique ou une héparine brute telle qu'obtenue par extraction à partir de matériaux biologiques, en particulier de tissus de mammifères.

25 On sait que l'héparine exerce son activité anticoagulante en potentialisant l'effet inhibiteur de l'antithrombine III (AT III), qui est une protéine du plasma, vis-à-vis des cascades de réactions enzymatiques mises en jeu au cours de la coagulation.

30 Etant donné que l'héparine est capable de déprimer simultanément un grand nombre de facteurs de la coagulation intervenant dans la création et le maintien des différentes formes d'hypercoagulabilité, son activité n'apparaît pas spécifique mais globale.

Si cette activité anticoagulante s'avère précieuse,

elle rend toutefois délicat le rééquilibrage du système coagulation-fibrinolyse chez les patients en traitement et ce, en raison du caractère global de son action. Il s'ensuit que l'administration (dans le but de prévenir les

5 risques d'hypercoagulation, par exemple l'apparition de thromboses postchirurgicales), de doses trop élevées de médicament anticoagulant, ou l'insuffisante sélectivité de ce médicament, peut finalement être à l'origine d'hémorragies graves.

10 Les inventeurs ont alors recherché des compositions de MPS comportant des chaînes de MPS dérivées de celles de l'héparine, mais plus satisfaisantes que les chaînes d'héparine au regard de leurs propriétés biologiques.

L'étude approfondie de conditions variées de dépolymérisation de l'héparine a amené les inventeurs à constater qu'il est possible, en opérant dans certaines conditions ménagées, de dépolymériser partiellement les chaînes d'héparine jusqu'à un degré correspondant à l'obtention d'une

15 composition de MPS possédant de précieuses propriétés antithrombotiques. Ces MPS sont capables d'inhiber le facteur Xa selon un degré de sélectivité plus élevé que l'héparine alors que leur activité anticoagulante globale est plus faible que celle de l'héparine. Ils présentent en conséquence un rapport avantageux de leur titre Yin-Wessler et de leur

20 titre USP.

25 On rappelle que l'activité Yin-Wessler est plus spécialement représentative de l'aptitude des produits actifs à potentialiser l'inhibition du facteur Xa du sang par l'AT III dans le test correspondant et le titre USP du pouvoir des produits actifs à inhiber la coagulation totale du sang ou du plasma.

30

Le titre Yin-Wessler est mesuré selon la méthode décrite par ces auteurs dans J.Lab. Clin. Med. 1976, 81, 298 à 300 et le titre USP selon la méthode décrite dans

35 "Pharmacopea of the United States of America", pages 229 et 230 (voir également le deuxième supplément USP-NH, page 62 et le quatrième supplément USP, page 90, intitulé respectivement "Drug substances" et "Dosage forms").

L'invention a donc pour but de fournir de nouvelles compositions de MPS à activité anti-Xa élevée et présentant à l'égard du facteur Xa une sélectivité remarquable dans le cadre des réactions enzymatiques successives qui caractérisent le processus de coagulation.

Elle vise également à fournir un procédé de préparation des produits du type, en question à partir d'héparine, de mise en oeuvre aisée pour une exploitation industrielle et permettant l'obtention de rendements élevés.

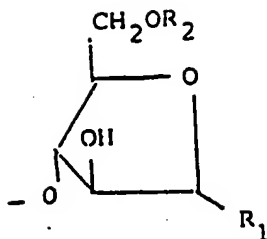
L'invention a, en outre, pour but de fournir des principes actifs de médicaments et les médicaments eux-mêmes capables notamment d'inhiber le facteur Xa selon un degré de sélectivité élevé alors que leur activité sur la coagulation globale peut être maintenue à un niveau très faible.

Les compositions de MPS selon l'invention sont susceptibles d'être obtenues à partir de l'héparine ou de fractions comportant des constituants hépariniques de poids moléculaires s'étageant notamment d'environ 2000 à 50 000 tels qu'obtenus par extraction à partir de tissus de mammifères.

Ces compositions sont caractérisées notamment par les points suivants : elles sont solubles dans un milieu hydro-alcoolique (eau-éthanol) ayant un titre de 55-62° GL, elles tendent vers l'insolubilité dans un milieu eau-éthanol ayant une teneur en alcool plus élevée et elles sont insolubles dans l'alcool pur. Elles présentent des titres Y-W et USP respectivement dans un rapport égal au moins à 2, notamment d'au moins 3, avantageusement supérieur à 6, voire à 10. Les rapports YW/APTT sont équivalents, même encore plus faibles.

Les compositions selon la présente invention sont plus particulièrement caractérisées encore par le fait qu'elles comportent des chaînes de MPS à motifs terminaux possédant la structure de base 2,5-anhydro-D-manno dont la fonction alcool primaire en 6 est substituée ou non par un groupe $-SO_3^-$.

Ce motif terminal est caractérisé par la formule générale suivante :



où R_1 représente un groupement fonctionnel choisi notamment parmi des groupements aldéhyde, alcool ou acide carboxylique ou leurs dérivés, notamment les acétals, amides, éthers, esters ou sels correspondants et

5 R_2 un atome d'hydrogène ou un groupe SO_3^- .

Dans un aspect avantageux de l'invention R_1 est constitué par un groupe aldéhyde, acide carboxylique ou alcool.

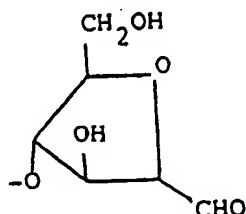
Des compositions préférées selon l'invention sont caractérisées par des rapports YW/USP de l'ordre de 10 ou supérieurs, avec une activité Yin-Wessler supérieure à 200 ui/mg, ou avantageusement supérieure à 250 ui/mg.

De préférence encore, les produits selon l'invention sont constitués par une majeure partie d'espèces de poids moléculaire de 2.000 à 8.000 daltons environ ce qui correspond à des structures ayant de 8 à 40 entités saccharidiques.

Ces produits peuvent être obtenus par dépolymérisation de l'héparine selon le procédé défini ci-après.

20 A cet effet, on soumet de l'héparine ayant des chaînes d'un poids moléculaire de l'ordre de 2.000 à 50.000 à l'action ménagée d'un agent chimique capable de dépolymériser ou fragmenter les chaînes hépariniques, notamment à l'action ménagée de l'acide nitreux, cette réaction étant effectuée dans des conditions ajustées les unes aux autres
25 afin de permettre l'obtention d'une dépolymérisation partielle du matériau héparinique de départ jusqu'à l'obtention d'un mélange formé en majeure partie de produits ayant des titres Yin-Wessler et USP dans un rapport supérieur à 2, 30 notamment d'au moins 3, avantageusement supérieur à 6, voire à 10.

une activité anti-Xa (Yin-Wessler) de l'ordre d'au moins 200 ui/mg, et comportant des groupes réducteurs terminaux de structure 2,5-anhydro-D-mannose :



Ces groupes terminaux résultent de l'action de l'acide nitreux au niveau des motifs N-sulfate-glucosamine de l'héparine.

La dépolymérisation de l'héparine peut être également
 10 avantageusement conduite de manière à obtenir une composition formée d'espèces moléculaires dont la majeure partie, avantageusement plus de 80% en poids, par rapport à l'héparine initiale, est soluble dans un milieu hydro-alcoolique (eau-éthanol) ayant un titre de 55-62° GL, de
 15 préférence de l'ordre de 58°GL. Les conditions de dépolymérisation peuvent être également ajustées par rapport au poids moléculaire de la majeure partie des espèces présentes dans le mélange de dépolymérisation. Ces conditions seront alors fixées afin d'obtenir une majorité d'espèces de
 20 poids moléculaire d'environ 2000 à 8000 daltons (notamment de 3000 à 5000 daltons), ce qui correspond à des structures formées de 8 à 40 motifs saccharidiques.

Lorsque le degré de dépolymérisation souhaité est atteint, on sépare du mélange de dépolymérisation
 25 les MPS qui sont précipitables par un solvant alcoolique et on les récupère.

D'une manière avantageuse, il s'agit de MPS qui constituent en quelque sorte une héparine "améliorée". Ils possèdent, en effet, de précieuses propriétés biologiques,
 30 en particulier un titre USP plus faible que celui de l'héparine de départ alors que l'activité Yin-Wessler initiale pré-

sente dans l'héparine est conservée, sinon augmentée.

En outre, d'une manière avantageuse, le procédé de l'invention peut être mis en oeuvre avec une héparine de qualité pharmaceutique, telle que disponible dans le commerce, cette héparine étant formée d'une majorité d'es-
5 pèces qui sont insolubles dans un milieu hydro-alcoolique ayant un titre de 55-61°GL, de préférence de 58°GL.

En effectuant la dépolymérisation partielle comme indiqué ci-dessus, on recouvre des chaînes hépariniques possédant des propriétés biologiques plus sélectives. D'une
10 manière générale, cette récupération de chaînes actives s'effectue avec des rendements élevés, jusqu'à 80% ou plus par rapport à la quantité d'héparine traitée.

Ce mélange de chaînes actives peut être utilisé tel quel, après avoir subi, compte-tenu des applications thé-
15 rapeutiques envisagées, des opérations de purification classiques telles que la dialyse, la mise en contact avec des résines échangeuses d'ions, en particulier des opérations de chromatographie.

Selon une disposition supplémentaire, avantageusement mise en oeuvre afin de disposer d'un mélange de MPS possédant des groupements terminaux de plus grande stabi-
20 lité, on soumet le mélange précédemment obtenu à un traitement permettant la transformation du groupe aldéhyde en un groupement fonctionnel plus stable, notamment en un groupe-
25 ment acide ou alcool.

Dans un mode préféré de réalisation du procédé de l'invention, on met avantageusement en oeuvre comme ma-
tière première une héparine possédant un poids moléculaire
30 de 2000 à 50 000 environ.

Il peut s'agir d'une héparine de qualité pharmaceutique classique, injectable, ou d'une héparine brute telle qu'elle est obtenue à l'issue des opérations d'extraction de ce principe actif à partir de tissus ou d'organes de mammi-
35 fères, notamment de mucus d'intestins ou de poumons, par exemple, de porc ou de boeuf. Elle peut encore être consti-

tuée par les produits qui sont normalement écartés lors de la purification d'une héparine en vue de l'obtention d'une héparine de qualité injectable et d'activité spécifique plus élevée.

5 L'héparine mise en oeuvre est soumise à l'action d'un agent chimique capable, dans les conditions ménagées utilisées, de dépolymériser partiellement l'héparine en conduisant à des chaînes biologiquement actives telles qu'évoquées ci-dessus.

10 On a plus spécialement recours à l'acide nitreux HNO_2 . Cet acide agit au niveau des motifs N-sulfate-glucosamine de l'héparine et les transforme en groupements de structure 2,5-anhydro-D-mannose. Avantageusement, on produit l'acide nitreux in situ par addition, selon des
15 quantités contrôlées, d'un acide à un dérivé de l'acide nitreux, en particulier à un sel ou un éther-sel. Dans un mode de réalisation avantageux de l'invention, on utilise un sel alcalin ou alcalino-terreux, plus particulièrement le nitrite de sodium NaNO_2 . Pour engendrer in situ l'acide nitreux, on
20 ajoute des quantités contrôlées d'un acide comportant, de préférence, des anions physiologiquement compatibles, tel que l'acide acétique ou encore l'acide chlorhydrique.

L'action de l'acide nitreux sur l'héparine est avantageusement effectuée en milieu aqueux.

25 La mise en oeuvre de ces dispositions présente un intérêt tout particulier au regard des applications biologiques envisagées.

Le milieu aqueux dans lequel on réalise la dépolymérisation constitue, en effet, un milieu physiologiquement
30 acceptable, ce qui permet d'éviter tout problème concernant l'élimination d'un solvant nuisible pour lesdites applications. En outre, le sel qui se forme dans le milieu lors de la production d'acide nitreux est un sel hydrosoluble, à savoir, du chlorure de sodium, dont la présence n'apparaît pas non
35 plus gênante. Les étapes de purification ultérieure du mélange de dépolymérisation évoquées ci-dessus s'en trouvent donc facilitées, aucun composé ou espèce organique n'étant

introduit dans le milieu réactionnel.

Les divers paramètres qui interviennent lors d'une réaction chimique, en particulier les concentrations en réactifs, la durée, la température et le pH, sont ajustés
5 les uns aux autres afin d'obtenir les produits désirés dans des conditions expérimentales les plus satisfaisantes.

On sait, à cet égard, combien ces différents paramètres sont généralement étroitement liés.

Il est clair que la modification d'un de ces
10 facteurs peut entraîner un ajustement d'un ou de plusieurs autres facteurs en conséquence.

L'étude de ces conditions expérimentales par la demanderesse a montré qu'il est avantageux de mettre en oeuvre les réactifs selon des quantités conduisant à une
15 concentration finale en héparine de l'ordre de 1 à 10 g de préférence, de 1,5 à 5 g, notamment voisine de 2 g pour 100 ml de milieu réactionnel, la concentration finale en nitrite de sodium pouvant varier de 0,02 M à 0,1 M environ et étant de préférence de l'ordre de 0,05 M. L'acide
20 chlorhydrique est utilisé en quantité suffisante pour l'obtention d'un pH du milieu réactionnel de l'ordre de 2 à 3, avantageusement de 2,2 à 2,7 de préférence de 2,5.

En opérant à une température de l'ordre de 0 à 10°C, de préférence de l'ordre de 4°C, on laisse réagir pendant une durée suffisante pour l'obtention du degré de
25 dépolymérisation souhaité. A titre indicatif, une incubation de 10 mn environ est apparue suffisante quand on opère à 4°C.

30 On interrompt alors l'opération de dépolymérisation.

A cet effet, on a recours avantageusement à une augmentation du pH du milieu.

L'addition d'un agent alcalin, par exemple, de
35 soude, en quantité suffisante pour obtenir un pH au moins neutre ou légèrement alcalin, permet l'interruption souhaitée de la réaction de dépolymérisation.

On sépare ensuite les mucopolysaccharides qui précipitent avec un solvant alcoolique.

L'utilisation d'éthanol absolu, à raison d'environ 5 volumes, permet d'obtenir la séparation souhaitée.

5 Le précipité est récupéré et, en vue de son utilisation, lavé et séché.

Par mise en oeuvre des dispositions indiquées ci-dessus, on isole des MPS possédant des titres YW/USP dans un rapport de l'ordre de 10/1, avec un titre en 10 activité Yin-Wessler supérieur à 200 ui/mg, et ce, à partir d'héparine de départ ayant des rapports YW/USP de l'ordre de 1.

Selon une disposition supplémentaire, on transforme les fonctions aldéhyde des groupes terminaux réducteurs 15 en groupements fonctionnels plus stables tels que des groupements fonctionnels plus stables tels que des groupements alcool ou acide, ce qui conduit à des chaînes de MPS terminées pour la plupart par des motifs de structure 2,5-anhydro-D-mannitol ou acide 2,5-anhy- 20 dro-D-mannonique.

Pour transformer les groupes terminaux 2,5-anhydro-D-mannose, en groupes 2,5 anhydro-D-mannitol, on soumet les produits précédemment recueillis du précipité à l'action d'un agent réducteur en mettant en oeuvre les con- 25 ditions permettant d'obtenir au moins en partie la transformation souhaitée.

L'agent réducteur est choisi parmi ceux utilisés habituellement pour la transformation des groupes al- 30 déhyde en groupes alcool. Parmi ces agents, il apparaît avantageux de mettre en oeuvre un borohydrure métallique.

On réalise avantageusement la réaction en milieu aqueux en présence de borohydrure de sodium ou de potassium durant plusieurs heures.

En opérant à température ambiante, de préférence 35 sous agitation, il apparaît suffisant de laisser le mélange réagir durant environ 4 heures. On observe une augmentation du pH du milieu réactionnel. Ce pH peut

atteindre une valeur de l'ordre de 10 dans le cas de l'utilisation de Na BH_4 où l'on observe une libération de soude.

5 Afin de détruire le borohydrure qui n'a pas réagi, on abaisse le pH par addition d'acide.

Dans le cas particulier considéré, il apparaît avantageux d'abaisser le pH à 4 par addition, par exemple, d'acide acétique.

10 On réajuste ensuite le pH à une valeur voisine de la neutralité, en particulier de l'ordre de 7,5 par addition d'un agent alcalin, par exemple, de soude.

On récupère du milieu réactionnel ceux des produits qui peuvent être précipités par de l'alcool et l'on récupère le précipité formé qui renferme les produits recherchés dans lesquels la terminaison de structure 2,5-anhydro-D-mannose a été transformée en structure 2,5-anhydro-D-mannitol.

20 La précipitation en question peut être effectuée par addition d'alcool éthylique absolu, avantageusement, à raison de 5 volumes.

Pour isoler les produits réduits recherchés, on procède avantageusement à une centrifugation et l'on recueille le culot de centrifugation qui est ensuite, si on le désire, lavé et séché.

25 L'étude des MPS ainsi obtenus montre qu'ils possèdent des titres YW/USP dans un rapport de l'ordre de 10 ou supérieur, avec des titres en activité Yin-Wessler supérieurs à 200 ui/mg, avantageusement supérieurs à 250 ui/mg.

30 Selon une variante, on transforme les groupes 2,5-anhydro-D-mannose en groupes acide 2,5-anhydro-D-mannonique.

35 On fait réagir dans les conditions nécessaires pour obtenir la transformation souhaitée les produits comportant les groupes terminaux 2,5-anhydro-D-mannose avec un agent oxydant choisi parmi ceux habituellement

utilisés pour la transformation des groupes aldéhyde en groupes acide carboxylique, en particulier les permanganates.

5 La réaction est avantageusement réalisée en milieu aqueux à un pH supérieur à la neutralité.

L'oxydation des groupements aldéhyde en groupements acide entraîne une chute du pH qu'il est avantageux d'ajuster constamment au cours de la réaction.

10 En opérant à la température ambiante, on obtient au bout de 15 heures environ l'oxydation souhaitée. On récupère du mélange réactionnel les produits qui précipitent avec un solvant alcoolique.

Le précipité est ensuite avantageusement lavé et séché.

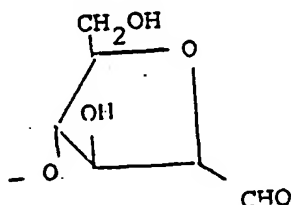
15 Il est entendu que les indications de poids moléculaires qui précèdent (et qui suivent, notamment dans les exemples) découlent des mesures de temps de rétention de solutions ayant une teneur déterminée de matière étudiée, dans des expériences de gel-perméation à travers une
20 colonne de gel, dans des conditions d'élution également déterminées, les logarithmes de ces indications de poids moléculaire étant dans la même relation de proportionnalité vis-à-vis des temps de rétention mesurés susdits, que le sont ceux des poids moléculaires de
25 4000, 6500, 16000 et 31 000 respectivement, de polystyrène-sulfonates de sodium étalons, notamment ceux commercialisés par la société dite CHROMPACK (Orsay-les-Ulis, France), vis-à-vis de leur temps de rétention respectifs, mesurés dans un système et sous des conditions de
30 gel-perméation identiques.

Dans la mesure où les produits traités quels que soit le degré de purification atteint, se trouvent à l'état de sels d'un métal physiologiquement acceptable, tel que le sodium, ils peuvent ensuite être transformés
35 en des sels mixtes ou simples contenant un autre métal

physiologiquement acceptable, tel que le calcium, par tout procédé applicable aux sels d'héparine. Avantageusement, on pourra avoir recours au procédé décrit dans le brevet français No 73 13580 déposé le 13 avril 1973 au nom de la demanderesse. On rappelle que ce procédé consiste essentiellement, partant par exemple d'un sel de sodium d'héparine, à mettre celui-ci en contact avec un sel différent d'un autre métal physiologiquement acceptable, par exemple, le chlorure de calcium, au sein d'une solution, à procéder ensuite à la séparation des ions métalliques non liés à l'héparine (par exemple, par précipitation alcoolique ou dialyse) et, dans la mesure où le taux de substitution atteint n'est pas suffisant, à remettre en contact, au sein d'une solution, le sel mixte d'héparine obtenu au terme du premier contact, avec une nouvelle dose de l'autre sel, notamment du chlorure de calcium, selon le taux de substitution final désiré.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront dans la description qui suit :

EXEMPLE 1 - Dépolymérisation partielle de l'héparine et obtention d'un mélange de MPS possédant des activités Yin-Wessler d'au moins 240 ui/mg, un rapport de leur titre YW à leur titre USP d'au moins 14 et des groupes réducteurs terminaux ayant la structure du 2,5-anhydro-D-mannose, à savoir :



le groupe hydroxyle primaire en 6 pouvant être diversement substitué notamment par un groupe SO_3^- .

On soumet avantagement une matière première héparinique à l'action ménagée de HNO_2 en procédant comme suit.

On dissout 60 g d'héparine commerciale ayant un rapport YW/USP voisin de 1 et un titre USP de 160 ui/mg dans 3 l d'eau distillée à + 4°C.

On ajoute du nitrite de sodium NaNO_2 en quantité suffisante pour avoir une solution 0,05M, soit 10,35 g puis, on ajuste le pH à 2,5 à l'aide d'acide chlorhydrique pur et on agite à $+4^\circ\text{C}$ pendant 10 mn. On ajuste alors le pH à 7,5 à l'aide de soude 5N.

Par addition de 5 volumes d'éthanol pur (soit 15 500 ml), on précipite les produits de la réaction. On récupère par centrifugation le précipité formé. On le lave avec de l'éthanol et on le sèche à 60°C sous vide profond. On recueille 60 g de produit présentant les caractéristiques suivantes :

titre USP	: 17 uI/mg
titre YW	: 240 uI/mg
titre AP TT *	: 12 uI/mg

* abréviation des termes anglais "activated partial thromboplastin time" (équivalent du Temps de Céphaline Kaolin - Caen J. et al. L'hémostase, édit. Expansion Scientifique (1976-169-170)

Dans un autre essai, on procède comme indiqué ci-dessus mais on utilise comme matière de départ un autre lot d'héparine titrant 165 ui/mg en unités USP et présentant un rapport YW/USP de l'ordre de 1.

On en dissout 3 g dans 150 ml d'eau distillée, à $+4^\circ\text{C}$, 517 mg de Na NO_2 étant ensuite ajoutés au milieu réactionnel.

A l'issue du traitement réalisé comme précédemment décrit, on récupère 2,8 g de produit ayant un titre USP de 24 ui/mg et un titre en activité Yin Wessler de 250 ui/mg.

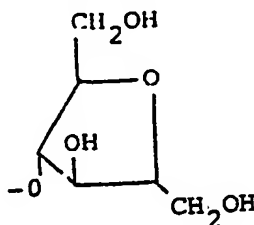
Selon encore un autre essai, réalisé dans les conditions définies plus haut, on met en oeuvre 50 g d'héparine de titre USP, 158 ui/mg avec un rapport YW/USP voisin de 1.

On les dissout dans 2500 ml d'eau distillée et à

+4°C on ajoute 8,625 g de NaNO_2 . A l'issue du traitement on récupère 46 g de produit possédant les caractéristiques suivantes :

	titre USP	13 ui/mg
5	titre en activité Y & W	270 ui/mg
	titre APTT	7 ui/mg

10 EXEMPLE II - Dépolymérisation partielle de l'héparine et obtention d'un mélange de MPS possédant des activités Yin-Wessler de 250 ui/mg un rapport de leur titre YW à USP de 15 et des groupes terminaux ayant la structure du 2,5 anhydro-D-mannitol, à savoir :



15 l'alcool primaire en 6 pouvant être substitué comme évoqué ci-dessus.

On dissout 47 g du produit obtenu dans l'exemple I dans 1200 ml d'eau distillée à température ambiante. Sous forte agitation, on ajoute 7 g de borohydrure de potassium KBH_4 . Cette agitation est maintenue 2 heures à température ambiante puis on ajoute de l'acide acétique au milieu réactionnel afin d'abaisser le pH à 4,0 et de détruire ainsi le KBH_4 qui n'a pas été consommé.

On soumet le milieu à agitation pendant 30 mn, puis on ajuste le pH à 7,5 avec de la soude 5N.

On ajoute 5 volumes d'alcool au milieu réactionnel. Le précipité formé est recueilli, essoré, lavé avec de l'éthanol pur et séché sous vide à 60°C.

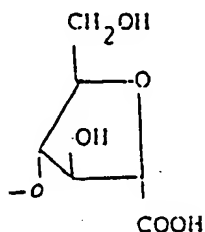
On récupère 46,5 g de produit présentant les caractéristiques suivantes :

30	titre USP	17 ui/mg
	titre en activité Y & W	250 ui/mg

titre APTT

11 ui/mg

EXEMPLE III - Dépolymérisation partielle de l'héparine
et obtention d'un mélange de MPS possédant
des activités Yin-Wessler de 270 ui/mg, un
rapport de leur titre YW à leur titre USP de
22 et des groupes terminaux ayant la structure
du 2,5 anhydro-D-mannitol, à savoir



le groupement hydroxyle primaire en 6 pouvant être substitué comme déjà indiqué.

On dissout 40 g du produit obtenu selon le dernier essai rapporté dans l'exemple I dans 400 ml d'eau distillée, à température ambiante.

On ajuste le pH à 8,5 avec de la soude 5N puis on ajoute 2 g de permanganate de potassium KMnO_4 dissous dans 40 ml d'eau.

On soumet le mélange réactionnel à une forte agitation pendant 15 heures. Durant cette agitation, on ajuste constamment le pH du mélange à 8,5 avec de la soude 5N.

Au bout de 15 heures, on ajoute 0,2 volume d'alcool (90 ml) pour achever de réduire le KMnO_4 qui n'a pas réagi.

On laisse le mélange réactionnel au repos durant 1 heure. On élimine par centrifugation le précipité de MnO_2 formé. Par précipitation avec de l'éthanol, on récupère les produits de la réaction, on les lave et on les sèche. On recueille ainsi 35 g de produit possédant les caractéristiques suivantes :

titre USP = 12 ui/mg

titre en activité Y & W = 270 ui/mg

titre APTT = 8 ui/mg.

Les produits obtenus selon l'invention peuvent être utilisés sous toutes les formes de sels thérapeutiquement utiles, notamment de métaux physiologiquement acceptables (sels de sodium, calcium, magnésium ou sels mixtes). On
5 passe éventuellement de l'un à l'autre par le procédé décrit dans la demande de brevet FR 73 13 580 déposée le 13 avril 1973, au nom de la demanderesse.

L'étude pharmacologique des produits de l'invention a montré qu'ils possèdent une action nettement plus
10 sélective, notamment au niveau de l'inhibition du facteur Xa, que celle de l'héparine.

De plus, ils présentent l'avantage de ne pas provoquer d'agrégation plaquettaire avec le sang de patients sur lesquels l'héparine provoque une telle réaction.

15 A titre indicatif, on rapporte ci-après les résultats obtenus en testant les produits de l'invention dans différents systèmes.

1) On a étudié in vitro, sur sang humain, leur activité vis-à-vis des plaquettes. On a ainsi constaté qu'à
20 des doses équivalentes à celles de l'héparine, ces produits avaient l'avantage de ne pas provoquer d'agrégation plaquettaire du sang de patients pour lesquels l'héparine provoquait une telle réaction.

2) Le temps de saignement chez des animaux traités par des MPS conformes à l'invention a été comparé à
25 celui obtenu avec de l'héparine.

A cet effet, on a effectué une blessure sur l'abdomen d'un rat préalablement anesthésié et rasé. La coupure a été effectuée par arrachage d'un lambeau de
30 peau que l'on a recouvert d'une gaze pendant 10 mn. Après extraction du sang avec de l'eau distillée, on a mesuré la quantité d'hémoglobine par une méthode spectrophotométrique. On a exprimé les résultats en pourcentage par rapport à la quantité d'hémoglobine extraite pour un
35 animal ayant reçu un placebo.

En administrant 5 à 10 mg/kg des produits selon l'invention, la quantité d'hémoglobine recueillie a été de 130% de celle du placebo, alors que pour des doses d'héparine de 1,2 et 4 mg/kg, on a obtenu des pourcentages de 170, 180 et 325% respectivement.

3) On a enfin étudié l'activité antithrombotique in vivo chez le lapin, selon le modèle de Wessler : on a administré au lapin 20 u/kg de complexe de prothrombine concentrée (Konyne de Laboratoire Cutter), puis 0,5 ml de venin de vipère Russel pour provoquer la formation de thrombine. L'effet des produits selon l'invention a été étudié, comparativement à l'héparine, lorsqu'on les administre 15 mn avant l'injection des produits thrombogènes. Les résultats obtenus sont les suivants :

DOSE	HEPARINE	PRODUITS DE L'INVENTION
500 u.Y & W/kg	protection totale	protection totale
250 u.Y & W/kg	protection totale	protection totale
125 u.Y & W/kg	protection partielle	protection partielle
62,5 u.YW/kg	pas de protection	faible protection

On constate donc au vu des résultats de ces essais que les produits de l'invention possèdent une activité antithrombotique au moins équivalente à celle de l'héparine et avantageusement exercent une réaction moindre vis-à-vis des plaquettes et permettent de réduire le temps de saignement. Ces résultats mettent donc en évidence que les produits de l'invention exercent une action très faible sur l'activité anticoagulante globale mais sont doués d'une activité antithrombotique de grand intérêt.

Avantageusement, les produits de l'invention sont dépourvus de toxicité.

L'administration de 10 000 u/kg (titre Yin-Wessler), par exemple, des produits conformes à l'exemple 1 ne provoque chez le lapin aucune réaction toxique, ni d'effet pyrogénique dans le test de pyrogénicité chez le lapin conforme à la pharmacopée française.

L'invention est donc relative à des préparations pharmaceutiques qui renferment lesdites compositions de MPS ayant notamment une activité d'au moins 200 ui/mg, et un rapport YW/USP supérieur à 6.

Elle est plus particulièrement relative à des préparations pharmaceutiques dépourvues de substances pyrogéniques lorsque nécessaire et contenant une quantité efficace de principes actifs en association avec des excipients pharmaceutiques.

En particulier, elle concerne les compositions dans lesquelles le véhicule pharmaceutique est approprié pour l'administration par voie orale. Des formes d'administration de l'invention appropriées pour l'administration par voie orale peuvent être avantageusement des gélules gastrorésistantes, des comprimés ou tablettes ou des pilules.

D'autres compositions pharmaceutiques comprennent ces compositions de MPS en association avec les excipients appropriés pour l'administration par voie rectale. Des formes d'administration correspondantes sont constituées par des suppositoires.

D'autres formes d'administration sont constituées par des aérosols ou des pommades.

L'invention concerne également des compositions pharmaceutiques injectables stériles ou stérilisables.

5 Ces solutions renferment avantageusement 1000 à 100 000 u (Yin-Wessler)/ml de produits de l'invention, de préférence de 5000 à 50 000, par exemple de 25 000 u/ml, lorsque ces solutions sont destinées à l'injection par voie sous-cutanée. Elles peuvent contenir, par exemple, de 500
10 à 10 000, notamment 5000 u/ml de compositions de MPS lorsqu'elles sont destinées à l'injection par voie intra-veineuse ou par perfusion.

Avantageusement, de telles préparations pharmaceutiques sont présentées sous la forme de seringue non
15 récupérables, prêtes à l'emploi.

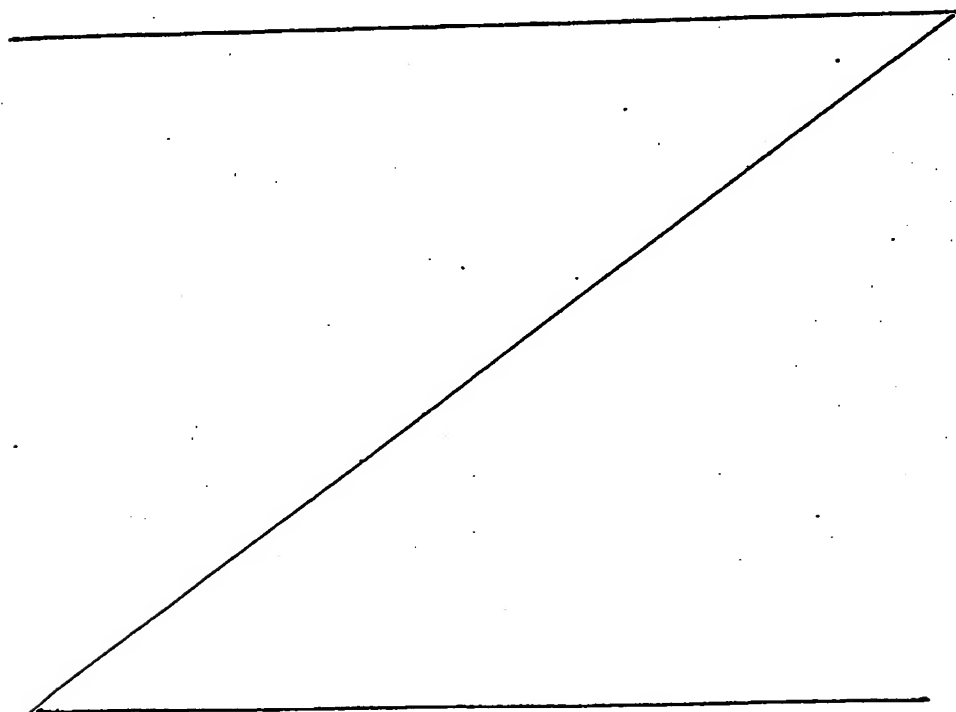
L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques contenant lesdites compositions de MPS en association avec un autre principe actif, utilisable en particulier pour la prophylaxie et le traitement de throm-
20bose, tel qu'un agent veinotonique comme la dihydroergotamine, un sel d'acide nicotinique ou un agent thrombolytique comme l'urokinase.

Les compositions pharmaceutiques de l'invention sont particulièrement adaptées pour le contrôle (préventif
25 ou curatif) de certaines étapes de la coagulation du sang chez l'homme ou l'animal, notamment dans le cas où le patient est soumis à des risques d'hypercoagulabilité résultant notamment de la libération par l'organisme de thromboplastines, par exemple, de thromboplastines tissulaires (opé-
30 rations chirurgicales, processus atheromateux, développement de tumeurs et troubles de la coagulation par des activateurs bactériens ou enzymatiques, etc...).

Afin d'illustrer l'invention, on indique, ci-après un exemple de posologie utilisable chez l'homme : cette
35 posologie comprend, par exemple, l'administration au patient de 1000 à 25000 u par voie sous-cutanée, deux ou trois fois par jour, selon le niveau des risques d'hyper-

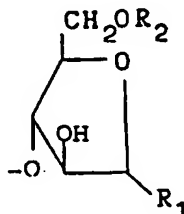
coagulabilité ou la condition thrombotique du patient,
ou de 1000 à 25000 u/24 heures par voie intraveineuse,
en administrations discontinues à intervalles réguliers, ou
continues par perfusion, ou encore de 1000 à 25000 u (trois
5 fois par semaine) par voie intramusculaire (ces titres
sont exprimés en unités Yin-Wessler). Ces doses peuvent être
standardisées ou ajustées pour chaque patient en fonction des
résultats et des analyses de sang effectuées auparavant, la
nature des affections dont il souffre et, d'une manière
10 générale, son état de santé.

L'invention se rapporte également à l'application
des compositions définies ci-dessus, à la constitution
de réactifs biologiques, utilisables en laboratoires no-
tamment comme éléments de comparaison pour l'étude d'autres
15 substances dont on souhaite tester l'activité anticoagulante,
notamment au niveau de l'inhibition du facteur Xa.



1. Compositions de mucopolysaccharides, caractérisées par le fait qu'elles sont solubles dans un milieu hydro-alcoolique (eau-éthanol) ayant un titre de 55-61°GL, de préférence de l'ordre de 58° GL, qu'elles
- 5 tendent vers l'insolubilité dans un milieu eau-éthanol ayant une teneur en alcool plus élevée, qu'elles sont insolubles dans l'alcool pur, qu'elles possèdent des titres YW et USP respectivement dans un rapport égal au moins à 2, notamment d'au moins 3, avantageusement supérieur
- 10 à 6, voire à 10, avec une activité YW supérieure à 200 ui/mg, avantageusement supérieure à 250 ui/mg, qu'elles sont constituées par une majeure partie d'espèces de poids moléculaire d'environ 2000 à environ 8000 daltons, ce qui correspond à des structures ayant de 8 à 40 motifs saccha-
- 15 ridiques et qu'elles comprennent des chaînes de MPS à motifs terminaux possédant la structure de base 2,5-anhydro-D-manno dont la fonction alcool primaire en 6 est substituée ou non pas un groupe SO_3^- .

2. Compositions selon la revendication 1, caractérisées par le fait que le motif terminal répond à la formule :
- 20

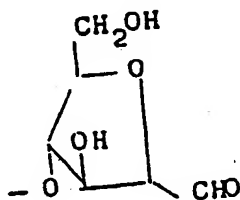


- dans laquelle R_1 représente un groupement fonctionnel choisi notamment parmi des groupements aldéhyde, alcool ou acide
- 25 carboxylique ou leurs dérivés, notamment les acétals, amides, éthers, esters ou sels correspondants, et R_2 représente un atome d'hydrogène ou un groupe $-\text{SO}_3^-$.

3. Compositions selon la revendication 2, caractérisées par le fait que R_1 est un groupe aldéhyde, acide
- 30 carboxylique ou alcool, ce qui correspond respectivement à des motifs terminaux ayant la structure de base du

2,5-anhydro-D-mannose, du 2,5-anhydro-D-mannitol et de l'acide 2,5-anhydro-D-mannonique.

4. Procédé pour l'obtention de mucopolysaccharides possédant un activité anti-Xa (YW) élevée et un rapport YW/USP d'au moins 2, par dépolymérisation de l'héparine à l'aide d'un agent chimique, caractérisé par le fait qu'on soumet de l'héparine constitué de mucopolysaccharides ayant des poids moléculaires s'étageant d'environ 2000 à 50000, à l'action ménagée d'un agent de dépolymérisation, capables de dépolymériser, ou fragmenter, les chaînes hépariniques, en particulier, à l'action de l'acide nitreux, cette réaction étant réalisée dans des conditions ajustées afin de permettre l'obtention d'une dépolymérisation partielle du matériau de départ conduisant à un mélange formé en majeure partie de produits ayant des titres YW et USP dans un rapport supérieur à 2, en particulier d'au moins 3, de préférence supérieur à 6, voire à 10, comportant des motifs réducteursternaux de structure 2,5-anhydro-D-mannose.



20

et, lorsque le degré de dépolymérisation est atteint, on sépare du milieu réactionnel les produits qui sont précipitables par un solvant organique et on les récupère.

5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé par le fait que la réaction de dépolymérisation est réalisée en milieu aqueux et que l'acide nitreux est formé in situ par addition de quantités contrôlées d'un acide à un dérivé d'un sel minéral de l'acide nitreux, notamment un sel alcalin ou alcalinoterreux.

6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que le sel minéral de l'acide nitreux est du nitrite de sodium.

7. Procédé selon la revendication 6, caracté-
risé par le fait que l'acide nitreux est formé in situ
par addition au nitrite de sodium d'un acide possédant des
anions physiologiquement acceptables, tels que l'acide
5 acétique et de préférence l'acide chlorhydrique.
8. Procédé selon l'une quelconque des revendi-
cations 5 à 7, caractérisé par le fait que la concentration
finale en héparine est avantageusement de 1 à 10 g, de
préférence de 1,5 à 5 g, et notamment voisine de 2 g pour
10 100 ml de milieu réactionnel, la concentration finale en
nitrite de sodium pouvant varier de 0,02M à 0,1M et étant de
préférence de 0,05M environ.
9. Procédé selon la revendication 7 ou 8, carac-
térisé par le fait que, pour former in situ l'acide nitreux,
15 on ajoute de l'acide chlorhydrique, en quantité contrôlée
et suffisante pour l'obtention d'un pH de l'ordre de 2 à 3,
avantageusement de 2,2 à 2,7 de préférence de 2,5.
10. Procédé selon l'une quelconque des revendications
4 à 9, caractérisé par le fait qu'on opère à une tempéra-
20 ture de l'ordre de 0 à 10°C, de préférence de 4°C, pendant
une durée suffisante pour l'obtention du degré de dépoly-
mérisation désiré, cette durée étant d'environ 10 mn
lorsqu'on opère à 4°C.
11. Procédé selon l'une quelconque des revendica-
25 tions 4 à 10, caractérisé par le fait qu'on interrompt
la dépolymérisation en augmentant le pH du milieu réaction-
nel par addition d'un agent alcalin, jusqu'à des valeurs
voisines de la neutralité ou légèrement alcalines.
12. Procédé selon l'une quelconque des revendications
30 4 à 11, caractérisé par le fait que, pour récupérer
les produits recherchés à groupements terminaux 2,5-
anhydro-D-mannose, on ajoute de l'alcool au milieu réaction-
nel, avantageusement à raison d'environ au moins 5 volumes
par rapport au volume de ce milieu, et l'on récupère le
35 précipité formé.
13. Procédé selon l'une quelconque des revendi-

cations 4 à 12, caractérisé par l'étape supplémentaire selon laquelle on transforme les groupes terminaux de structure 2,5-anhydro-D-mannose en groupes de structure 2,5-anhydro-D-mannitol, par réduction à l'aide d'un agent réducteur choisi parmi ceux utilisés habituellement pour la transformation des groupes aldéhyde en groupes alcool, en particulier par un borohydrure métallique, et l'on récupère les produits réduits obtenus..

14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 13, caractérisé par l'étape supplémentaire selon laquelle on transforme les groupes terminaux de structure 2,5-anhydro-D-mannose en groupes de structure 2,5-D-anhydro-mannonic en soumettant les produits mucopolysaccharidiques à l'action d'un agent d'oxydation choisi parmi ceux utilisés habituellement pour la transformation des groupes aldéhyde en groupes acide.

15. Médicaments, caractérisés par le fait qu'ils comprennent une quantité efficace d'au moins une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 en association avec un véhicule pharmaceutique.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

0037319

Numéro de la demande

EP 81 40 0449

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl. 7)
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	
	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 85, no. 13, 27 septembre 1976, page 239, réf.: 89445z Columbus, Ohio, US J.A. CIFONELLI: "Nitrous acid depolymerization of glycosaminoglycans" & Methods Carbohydr. Chem. 1976, vol. 7, pages 139-41 * Abrégé en entier * --	1-14	C 08 B 37/10 A 61 K 31/725
	BIOCHEMISTRY, 1976, vol. 15, no. 18, pages 3932-50 J.E. SHIVELY et al.: "Formation of anhydrosugars in the chemical depolymerization of heparin", * Page 3935, figure * --	1-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl. 7) C 08 B 37/10 A 61 K 31/725
	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 91, no. 11, 10 septembre 1979, page 292, réf.: 85818z Columbus, Ohio, US U. LINDAHL et al.: "Structure of the antithrombin-binding site in heparin" & Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1979 vol. 76, no. 7, pages 3198-3202 * Abrégé en entier * --	1-15	CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X: particulièrement pertinent A: arrière-plan technologique O: divulgation non-écrite P: document intercalaire T: théorie ou principe à la base de l'invention E: demande faisant interférence D: document cité dans la demande L: document cité pour d'autres raisons
	US - A - 3 766 167 (S.E. LASKER et al.) * Exemple 3; revendication * -- ./.	1-15	à: membre de la même famille, document correspondant
Le présent rapport de recherche a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche	Date d'achèvement de la recherche	Examineur	
La Haye	03-07-1981	LENSEN	



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

0037319

Numéro de la demande

EP 81 40 0449

-2-

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl. 3)
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	
E	<u>EP - A - 0 014 184</u> (LINDAHL U.P.F. et al.) * Exemple 1; page 7, exemple 8, revendications * --	1-15	
PA	<u>FR - A - 2 440 376</u> (CHOAY) ----		
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl. 3)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.